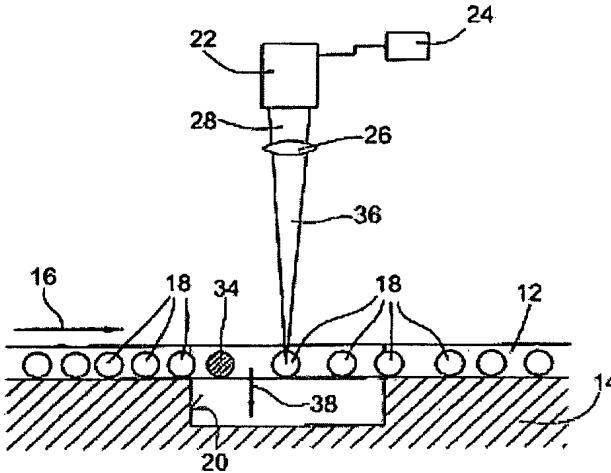


Sorting particles, especially cells, comprises adjusting the waveband of an electromagnetic beam for selective acceleration into an interceptor**Publication number:** DE10157032**Publication date:** 2003-06-12**Inventor:** HUMMEL STEFAN (DE)**Applicant:** EVOTEC AG (DE)**Classification:****- International:** G21K1/00; G01N15/10; G01N15/14; G21K1/00;
G01N15/10; G01N15/14; (IPC1-7): B07C5/342**- European:** G21K1/00N**Application number:** DE20011057032 20011121**Priority number(s):** DE20011057032 20011121**Report a data error here****Abstract of DE10157032**

Sorting particles, especially cells, comprising moving mixed particles relative to an interceptor (20), where the waveband of an electromagnetic beam (36) is adjusted as a function of the reflectivity or absorptivity of the particles (18, 34), is new. The waveband of the electromagnetic beam is adjusted to differentiate accelerations experienced by the particles to be sorted (34) from accelerations experienced by the remainder (18). Sorting particles, especially cells, comprising moving mixed particles relative to an interceptor (20), where the waveband of an electromagnetic beam (36) is adjusted as a function of the reflectivity or absorptivity of the particles (18, 34), is new. The waveband of the electromagnetic beam is adjusted to differentiate accelerations experienced by the particles to be sorted (34) towards the interceptor, from accelerations experienced by the remainder (18). Thus, when the particles are irradiated, one of the particle species (18 or 34) is intercepted. An Independent claim is also included for the corresponding particle- or cell-sorting apparatus.



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

⑯ Aktenzeichen: 101 57 032.5
⑯ Anmeldetag: 21. 11. 2001
⑯ Offenlegungstag: 12. 6. 2003

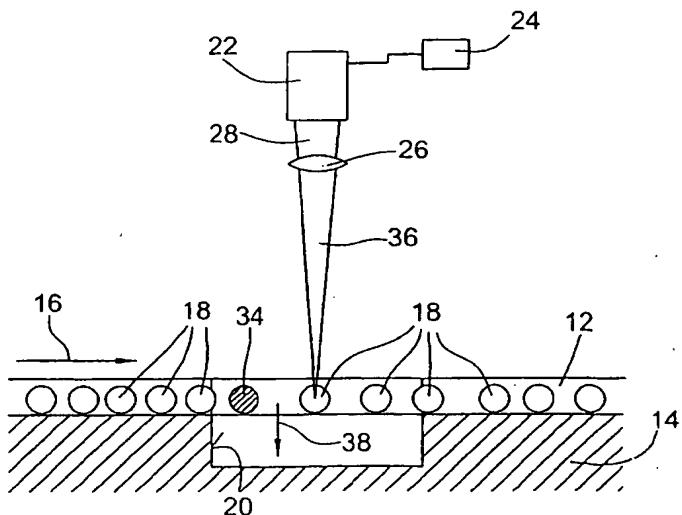
⑯ Anmelder:
Evotec OAI AG, 22525 Hamburg, DE
⑯ Vertreter:
Patentanwälte von Kreisler, Selting, Werner et col.,
50667 Köln

⑯ Erfinder:
Hummel, Stefan, 25489 Haseldorf, DE
⑯ Entgegenhaltungen:
DE 38 11 566 A1
DE 6 94 13 470 T2
US 51 01 978 A
US 49 81 580 A
US 48 87 721 A
US 35 58 877 A

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑯ Verfahren und Vorrichtung zum Sortieren von Partikeln
⑯ Bei einem Verfahren zum Sortieren von Partikeln (34), insbesondere Zellen, wird ein Partikelgemisch (10) mit auszusortierenden Partikeln (34) relativ zu einer Auffangeinrichtung (20), bei der es sich um einen Graben handeln kann, bewegt. Die Partikel (18, 34) werden von einer Bestrahlungseinrichtung (22) mit elektromagnetischer Strahlung bestrahlt. Hierdurch erfahren Partikel (34), die elektromagnetische Strahlung (36) eines festgelegten Wellenlängenbereichs reflektieren und/oder absorbieren, eine Beschleunigung in Richtung des Pfeils (38), d. h. in Richtung der Auffangeinrichtung (20). Hierdurch können spezifische Partikel (34) auf einfache Weise aus einer Vielzahl von Partikeln (18, 34) aussortiert werden.



Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft ein Verfahren sowie eine Vorrichtung zum Sortieren von Partikeln, insbesondere zum Sortieren von Zellen.

[0002] Insbesondere bei biologischen und/oder chemischen Untersuchungsverfahren von Partikeln wie einzelnen Molekülen, Polymeren, Beads oder Zellen ist es häufig erforderlich, aus einer Vielzahl von Partikeln bestimmte Partikel auszusortieren. Beispielsweise müssen aus einer großen Anzahl von unterschiedlichen Partikeln bestimmte Partikel zur weiteren Untersuchung oder Verwendung aussortiert werden. Hierzu ist es bekannt, die entsprechenden Partikel in einem elektrischen Feld abzulenken und die abgelenkten, d. h. die aussortierten Partikel in einer Auffangeinrichtung aufzufangen. Hierzu ist es zunächst erforderlich, die Partikel beispielsweise mit Hilfe einer speziell ausgebildeten Düse zu vereinzeln. Dies erfolgt beispielsweise mit Hilfe eines Hüllstroms und einer Vereinzelung in Tropfen, wobei die einzelnen Partikel elektrisch aufgeladen werden. Ausgehend von dieser Düse fallen die vereinzelten Partikel aufgrund der Schwerkraft durch ein elektrisches Feld.

[0003] Bevor die Partikel das elektrische Feld erreichen, ist es ferner erforderlich, zum Beispiel mit Hilfe eines Lasers jeden einzelnen Partikel zu analysieren. Wird bei dieser Analyse ein auszusortierender Partikel erkannt, wird mit Hilfe eines entsprechenden Steuersignals das elektrische Feld aktiviert, sobald der entsprechende Partikel in dem Bereich, in dem das elektrische Feld wirksam angelegt werden kann, gelangt. Dieses Verfahren ist äußerst zeitaufwendig und daher kostenintensiv. Ferner ist das Vereinzen der Partikel, insbesondere bei kleinen Partikeln und Zellen sehr schwierig. Ein weiterer Nachteil dieses Verfahrens besteht darin, dass jeder einzelne Partikel untersucht werden muss, um das elektrische Feld entsprechend steuern zu können.

[0004] Aufgabe der Erfindung ist es, ein verbessertes Verfahren sowie eine verbesserte Vorrichtung zum Sortieren von Partikeln zu schaffen, bei dem bzw. bei der eine vorgeschaltete Analyse jedes einzelnen Partikels nicht erforderlich ist.

[0005] Die Lösung der Aufgabe erfolgt erfindungsgemäß durch ein Verfahren gemäß Anspruch 1 bzw. eine Vorrichtung gemäß Anspruch 8.

[0006] Der Erfindung liegt die Erkenntnis zugrunde, dass Partikel durch Bestrahlung mit elektromagnetischer Strahlung beschleunigt werden können. Eine Beschleunigung der Partikel erfolgt insbesondere durch Absorption und/oder Reflexion der elektromagnetischen Strahlung. Durch die Strahlung entsteht ein Lichtdruck, der vom Grad der Absorption bzw. Reflexion der entsprechenden Strahlung abhängig ist. Der Absorptions/Reflexionsgrad eines Partikels ist abhängig von der Wellenlänge der Strahlung. Eine Vielzahl unterschiedlicher Partikel, die mit elektromagnetischer Strahlung eines bestimmten Wellenlängenbereichs bestrahlt werden, werden somit unterschiedlich stark beschleunigt. Bei der Absorption entsteht ferner eine lokale Erwärmung des Partikels, die einen Impuls hervorruft.

[0007] Gemäß des erfindungsgemäßen Verfahrens wird ein Partikelgemisch, das auszusortierende Partikel enthält, relativ zu einer Auffangeinrichtung bewegt. Bei dem Partikelgemisch handelt es sich vorzugsweise um einen in einer Ebene angeordneten Partikelstrom, um zu vermeiden, dass die Beschleunigung eines auszusortierenden Partikels durch Impulse auf andere Partikel übertragen wird. Die Partikel können in einem Transportmedium enthalten sein. Es ist ebenso möglich, die Auffangeinrichtung zusätzlich oder anstatt der Partikel zu bewegen. Erfindungsgemäß werden sämtliche Partikel mit einer elektromagnetischen Strahlung

bestrahlt, so dass eine Beschleunigung der Partikel stattfindet. Hierbei wird ein Wellenlängenbereich der Strahlung in Abhängigkeit der Reflexions- und/oder Absorptionseigenschaften der Partikel derart eingestellt, dass vorzugsweise

5 die auszusortierenden Partikel eine größere Beschleunigung in Richtung der Auffangeinrichtung erfahren als die übrigen Partikel (oder umgekehrt). Die beschleunigten und damit abgelenkten, auszusortierenden Partikel werden in Richtung der Auffangeinrichtung beschleunigt und sodann von der 10 Auffangeinrichtung aufgefangen.

[0008] Bei den auszusortierenden Partikeln kann es sich beispielsweise um die Partikel handeln, die für die Weiterverarbeitung bzw. weitere Untersuchungen aussortiert werden sollen. Ebenso ist es möglich, diejenigen Partikel auszusortieren, die nicht für die Weiterverarbeitung bzw. weitere Untersuchung geeignet sind. In diesem Fall werden der Weiterverarbeitung bzw. Untersuchung die nicht aussortierten Partikel zugeführt.

[0009] Das erfindungsgemäße Verfahren kann beispielsweise durchgeführt werden, in dem das Partikelgemisch vorzugsweise in einer Ebene in vertikaler Richtung bewegt wird, d. h. beispielsweise Partikel aufgrund der Schwerkraft in vertikaler Richtung fallen. Die vertikal fallenden Partikel werden sodann durch eine vorzugsweise horizontal verlaufende elektromagnetische Strahlung bestrahlt. Hierdurch wirkt auf die entsprechenden auszusortierenden Partikel eine Beschleunigung in horizontaler Richtung. Die vor der Bestrahlung in einer Ebene angeordneten Partikel werden somit voneinander getrennt, da aufgrund der Beschleunigung ein horizontales Verschieben der auszusortierenden Partikel in Strahlungsrichtung erfolgt. Durch Vorsehen einer geeigneten Auffangeinrichtung ist es möglich, die in horizontaler Richtung aufgrund der Bestrahlung verschobenen Partikel aufzufangen und somit aus dem Partikelgemisch 25 auszusortieren.

[0010] Ein weiterer die Beschleunigung der Partikel in Richtung der Auffangeinrichtung begünstigender physikalischer Effekt besteht in dem sogenannten opto-akustischen Effekt. Aufgrund der vorzugsweise gepulsten elektromagnetischen Bestrahlung der Partikel mit elektromagnetischer Strahlung und der erfolgenden Absorption dieser Strahlung wird der Partikel lokal auf der der Strahlung zugewandten Seite für kurze Zeit stark erwärmt. Durch das anschließende "schnelle" Abkühlen wird ein Druckimpuls hervorgerufen, der eine Beschleunigung der Partikel in Strahlungsrichtung bewirkt. Ein schnelles Abkühlen erfolgt insbesondere, wenn die Wärmeerzeugung durch einen kleinen Fokus lokal im Partikel erzeugt wird. Es folgt keine Wärmeverteilung, sondern ein sofortiges, in einem Impuls resultierendes Abkühlen.

[0011] In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform wird das Partikelgemisch bzw. der Partikelstrom über einen Graben als Auffangeinrichtung bewegt. Die Partikel strömen hierbei vorzugsweise über eine geneigte oder horizontale Fläche, wobei der Graben vorzugsweise senkrecht zur Bewegungsrichtung der Partikel angeordnet ist. Die Breite des Grabens ist hierbei in Abhängigkeit der Strömungsgeschwindigkeit der Partikel derart gewählt, dass die Partikel ohne die durch elektromagnetische Steuerung hervorgerufene Beschleunigung über den Graben hinwegströmen.

[0012] Die Partikel werden vorzugsweise senkrecht zu ihrer Bewegungsrichtung in Richtung der Auffangeinrichtung bestrahlt. Wenn es sich bei der Auffangeinrichtung um einen Graben handelt, den die Partikel überströmen, erfolgt die Beleuchtung vorzugsweise von der dem Graben gegenüberliegenden Seite, so dass die Partikel zwischen einer Bestrahlungseinrichtung und dem Graben angeordnet sind. Zusätzlich kann ein weiterer Strahl vorgesehen sein, der derart aus-

gerichtet ist, dass die auszusortierenden Partikel zusätzlich abgebremst werden.

[0013] Da die Absorptions-, Reflexions- und Erwärmungseigenschaften auch bei einem relativ engen Wellenlängenbereich der Strahlung bei unterschiedlichen Partikeln ähnlich sein können, erfolgt vorzugsweise eine stufenweise Aussortierung der auszusortierenden Partikel, wobei in einer ersten Stufe eine Grobsortierung und in weiteren Stufen eine stets feiner und damit genauer werdende Sortierung stattfindet. Hierdurch ist gewährleistet, dass nach dem Aussortieren der Partikel aus dem Partikelgemisch ein hoher Prozentsatz der aussortierten Partikel tatsächlich den gewünschten Partikeln entspricht. Ebenso ist es möglich, das erfindungsgemäße Verfahren als eine Vorsortierung vor einer Partikelsortierung mit bekannten Verfahren vorzusehen. Dies hat den Vorteil, dass diesen bekannten aufwendigen und kostenintensiven Vorrichtungen zum Aussortieren von Partikeln bereits ein Gemisch aus Partikeln zugeführt wird, das einen hohen Anteil an auszusortierenden Partikeln enthält.

[0014] Zur Erhöhung des Durchsatzes weist das Partikelgemisch bzw. der Partikelstrom eine Breite auf, so dass sich mehrere Partikel nebeneinander befinden. Um ein Aussortieren der entsprechenden Partikel über die gesamte Breite des Partikelstroms zu gewährleisten, kann beispielsweise eine vorgegebene Anzahl von Strahlen über die gesamte Breite des Partikelgemisches nebeneinander angeordnet werden. Vorzugsweise wird mit Hilfe einer geeigneten optischen Einrichtung, wie beispielsweise einer Paulinse eine Fokuslinie erzeugt, die mindestens die Breite des Partikelgemisches aufweist. Sämtliche Partikel strömen somit durch die Fokuslinie, wobei die auszusortierenden Partikel, wie vorstehend beschrieben, beschleunigt werden. Ferner ist es möglich, einen schnell oszillierenden Strahl vorzusehen. Hierbei muss die Oszillationsgeschwindigkeit des Strahls auf die Transportgeschwindigkeit des Partikelstroms abgestimmt werden, um sicherzustellen, dass sämtliche auszusortierenden Partikel von dem Strahl erfasst werden. Die Bestrahlung der Partikel erfolgt somit in einer Querebene zur Strömungsrichtung des Partikelgemisches.

[0015] Da Partikel häufig Licht unterschiedlicher Wellenlängen absorbieren und/oder reflektieren, wird das Partikelgemisch bei einer bevorzugten Ausführungsform mit Strahlung unterschiedlicher Wellenlängenbereiche bestrahlt. Dies kann gleichzeitig oder in Bewegungsrichtung des Partikelstroms nacheinander erfolgen. Durch das Bestrahlen der Partikel in mehreren Wellenlängenbereichen werden die auszusortierenden Partikel stärker beschleunigt und somit gegenüber den nicht auszusortierenden Partikeln stärker abgelenkt, oder umgekehrt.

[0016] Vorzugsweise sind die auszusortierenden Partikel mit einem Farbmarker o. dgl. markiert. Bei dem Farbmarker kann es sich um einen chemischen Stoff handeln, der sich mit den auszusortierenden Partikeln verbindet. Ein mit einem Farbmarker markierter Partikel absorbiert Licht bestimmter Wellenlänge idealerweise zu annähernd hundert Prozent. Gleichzeitig kann ein derartig markierter Partikel Licht einer anderen Wellenlänge zu annähernd hundert Prozent reflektieren. Wird der Partikel somit mit Licht der beiden entsprechenden Wellenlängen bestrahlt, wirkt auf den entsprechenden Partikel ein Lichtdruck von

$$P = x \cdot I/c,$$

mit $x = 3$,

wobei P der Lichtdruck
 x der Absorptions-/Reflexionsfaktor
 I die Lichtintensität und
 c die Lichtgeschwindigkeit ist.

[0017] Der Absorptions-/Reflexionsfaktor x ist im vorliegenden idealen Fall etwa 3, da bei einer hundertprozentigen Absorption des Lichts die Lichtenergie vollständig auf den Partikel übertragen wird, so dass der Faktor $x = 1$ beträgt.

5 Bei der Reflexion von Licht zu hundert Prozent verdoppelt sich der Faktor, da auf den entsprechenden Partikeln aufgrund des Rückstoßes der doppelte Lichtdruck wirkt. Somit ergibt sich x zu 3, wenn auf einen Partikel elektromagnetische Strahlung wirkt, die zu hundert Prozent absorbiert wird und zusätzlich eine andere elektromagnetische Strahlung wirkt, die zu hundert Prozent reflektiert wird.

[0018] Die durch das Verwenden von Farbmarkern realisierten Eigenschaften können die Partikel ggf. auch bereits ohne Markierung aufweisen.

[0019] Durch das Pulsen der elektromagnetischen Strahlung kann die Beschleunigung der auszusortierenden Partikel weiter erhöht werden. Dies beruht insbesondere auf dem opto-akustischen Effekt.

[0020] Bei einer Transportgeschwindigkeit von 10 mm/s 20 des Partikelgemisches bzw. bei einer entsprechenden Relativbewegung kann zwischen dem Partikelgemisch und der Auffangeinrichtung eine gute Aussortierrate erzielt werden, so dass ein kostengünstiges Sortieren von Partikeln möglich ist. Bei einer Bestrahlung des Partikelgemisches, bei der der

25 Fokus der Bestrahlungseinrichtung im Partikelgemisch liegt, können bei einer Fokusbreite, die 1/3 bis 1/8 des Partikeldurchmessers beträgt, gute Ergebnisse erzielt werden. Beim Aussortieren von Zellen beträgt die Fokusbreite vorzugsweise 1,2 bis 2 µm. Vorzugsweise beträgt die Länge des

30 Fokus, d. h. die Ausdehnung des Fokus senkrecht zur Bewegungsrichtung der Partikel hierbei das Vier- bis Sechsfache von der Fokusbreite. Dies entspricht bei vorstehendem Beispiel etwa dem Zellendurchmesser. Besonders gute Ergebnisse konnten unter Verwendung eines Lasers als Bestrahlungseinrichtung erzielt werden, der vorzugsweise eine cw-Leistung ("continuous wave") von 1,5 bis 2 kW hat. Eine weitere Verbesserung der Ergebnisse konnte durch Pulsen des Lasers mit einer Pulsrate von etwa 40 bis 60 kHz und entsprechend hohen Pulseleistungen erzielt werden.

35 [0021] Bei einer bevorzugten Ausführungsform des Verfahrens werden zum Beschleunigen der auszusortierenden Partikel zusätzlich oder anstatt der elektromagnetischen Strahlung Schallwellen, insbesondere im Ultraschallbereich verwendet.

40 [0022] Die erfindungsgemäße Vorrichtung zum Sortieren von Partikeln, insbesondere Zellen, die insbesondere zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens geeignet ist, weist eine Bestrahlungseinrichtung zum Bestrahlen eines auszusortierende Partikel aufweisenden Partikelgemisches mit elektromagnetischer Strahlung auf. Ferner ist eine Auffangeinrichtung zur Aufnahme der aussortierten Partikel vorgesehen, wobei das Partikelgemisch und die Auffangeinrichtung relativ zueinander bewegbar sind. Hierbei erzeugt die Bestrahlungseinrichtung elektromagnetische Strahlung

45 in einem Wellenlängenbereich, der in Abhängigkeit der Reflexions- und/oder Absorptionseigenschaften der auszusortierenden Partikel ausgewählt ist. Entsprechend dem erfindungsgemäßen Verfahren weist auch die erfindungsgemäße Vorrichtung insbesondere den Vorteil auf, dass eine Analyse sämtlicher Partikel vor dem Aussortieren nicht erforderlich ist. Sofern der bevorzugte Wellenlängenbereich durch eine ausreichend unterschiedliche Beschleunigung der auszusortierenden Partikel gegenüber den nicht auszusortierenden Partikel nicht bekannt ist, ist es ggf. erforderlich, vor dem

50 Durchführen eines Aussortievorganges die Absorptions-/Reflexionseigenschaften der auszusortierenden Partikel, insbesondere im Vergleich zu den nicht auszusortierenden Partikeln zu bestimmen. Nach einer derartigen Voruntersu-

chung kann jedoch eine beliebig große Anzahl an Partikeln mit der erfundungsgemäßen Vorrichtung sowie gemäß dem erfundungsgemäßen Verfahren aussortiert werden. Eine Bestimmung jedes einzelnen Partikels während des Aussortiervorgangs ist nicht erforderlich.

[0023] Vorzugsweise wird das Partikelgemisch in einem Kanal einer Mikrostruktur bewegt. In dieser Ausführungsform ist die Auffangeinrichtung vorzugsweise ebenfalls als Kanal oder Graben ausgebildet, der den Kanal, in dem das Partikelgemisch bewegt wird, kreuzt. Die beiden Kanäle sind vorzugsweise in einer gemeinsamen Mikrostruktur in verschiedenen Ebenen angeordnet. Es ist hierbei beispielsweise möglich, die Partikel in einem, vorzugsweise flüssigen Medium vorzusehen, um die Partikel auf einfache Weise bewegen zu können. Ferner kann auch in dem Auffanggraben eine Flüssigkeit vorgesehen sein, die die aussortierten Partikel, beispielsweise in ein ebenfalls in der Mikrostruktur vorgesehenes Reservoir abtransportiert.

[0024] Nachfolgend wird die Erfindung anhand bevorzugter Ausführungsformen unter Bezugnahme auf die anliegenden Zeichnungen näher erläutert.

[0025] Es zeigen:

[0026] Fig. 1 eine schematische Draufsicht einer ersten bevorzugten Ausführungsform der erfundungsgemäßen Vorrichtung.

[0027] Fig. 2 eine schematische Schnittansicht der in Fig. 1 dargestellten Ausführungsform in Richtung der Linie II-II,

[0028] Fig. 3 eine der Fig. 2 entsprechende Schnittansicht mit auf einen auszusortierenden Partikel einwirkender elektromagnetischer Strahlung, und

[0029] Fig. 4 eine schematische Seitenansicht einer zweiten Ausführungsform der Erfindung.

[0030] Bei der in Fig. 1 bis 3 dargestellten Ausführungsform wird ein Partikelstrom 10 in einem Kanal 12 einer Mikrostruktur 14 in Richtung eines Pfeils 16 bewegt. Hierzu sind die einzelnen Partikel 18 in einem flüssigen Medium angeordnet.

[0031] Senkrecht zu dem Kanal 12 verläuft ein weiterer Kanal bzw. Graben 20, der als Auffangeinrichtung zur Aufnahme der auszusortierenden Partikel dient. Die beiden Kanäle 12, 20 sind in der Mikrostruktur 14 einander kreuzend angeordnet.

[0032] Dem Graben 20 gegenüberliegend ist eine Bestrahlungseinrichtung 22, wie beispielsweise ein Laser, insbesondere ein Einzel-Moden-Laser mit möglichst kleinem Fokus angeordnet. Die Bestrahlungseinrichtung 22 ist mit einer Steuereinrichtung 24 verbunden, durch die die Bestrahlungseinrichtung beispielsweise derart gesteuert werden kann, dass elektromagnetische Strahlung in einem oder mehreren ausgewählten Wellenlängenbereichen erzeugt wird. Dies kann durch Steuerung eines entsprechenden Lasers sowie durch Vorschalten optischer Filter und dergleichen erfolgen. Die Bestrahlungseinrichtung 22 weist ferner mindestens eine Linse 26 bzw. ein Linsensystem auf, durch die die von der Bestrahlungseinrichtung erzeugte Strahlung 28 auf einen Punkt 30 fokussiert wird. Insbesondere ist die Linse 26 bzw. das Linsensystem derart ausgebildet, dass eine Fokuslinie 32 (Fig. 1), die sich über die gesamte Breite des Kanals 12 erstreckt, ausgebildet wird. Als Linse 26 kann hierzu beispielsweise eine Paulinse vorgesehen sein. Die numerische Apertur eines in der Bestrahlungseinrichtung vorgesehenen Objektivs, das in der Skizze vereinfacht durch die Linse 26 dargestellt ist, beträgt vorzugsweise weniger als 1, insbesondere weniger als 0,8 und besonders bevorzugt weniger als 0,5.

[0033] Anstelle des Erzeugens einer Fokuslinie 32, mit Hilfe einer geeigneten Optikeinrichtung kann auch ein oszillierender Strahl vorgesehen werden. Hierzu ist eine entspre-

chende Bewegungseinrichtung vorgesehen, durch die beispielsweise die Linse 26 um eine in Flussrichtung 16 des Partikelstroms 10 angeordnete Achse hin- und hergeschwenkt wird. Hierbei muss die Oszillationsgeschwindigkeit auf die Flussgeschwindigkeit des Partikelstroms 10 abgestimmt sein. Ein derartig oszillierender Strahl hat den gleichen Effekt wie eine Fokuslinie 32.

[0034] Zur Verdeutlichung des erfundungsgemäßen Verfahrens ist ein Partikel 34 in den Fig. 1 bis 3 schraffiert dargestellt. Bei dem Partikel 34 handelt es sich um einen auszusortierenden Partikel. Die von der Bestrahlungseinrichtung 22 abgegebene elektromagnetische Strahlung ist auf die Absorptions-/Reflexionseigenschaften des Partikels 34 abgestimmt. Entsprechend Fig. 1 bewirkt ein auf Partikel 18 treffender Strahl 36 keine oder nur eine geringfügige Beschleunigung der Partikel 18 in Richtung eines Pfeils 38, da die Wellenlänge des Strahls 36 derart gewählt ist, dass von den Partikeln 18 keine oder nur ein geringer Anteil der elektromagnetischen Strahlung absorbiert/reflektiert wird. Die Partikel 18 gelangen somit ohne relevante Ablenkung in Richtung des Pfeils 38 über den Graben 20 und verbleiben in dem Kanal 12. Trifft der elektromagnetische Strahl 36 auf den auszusortierenden Partikel 34 (Fig. 3) so erfolgt eine Beschleunigung des Partikels 34 in Richtung des Pfeils 38.

[0035] Aufgrund der Flussgeschwindigkeit in Richtung des Pfeils 16 hat auch der auszusortierende Partikel 34 eine Geschwindigkeitsrichtung in Richtung des Pfeils 16. Durch die senkrechte Geschwindigkeitsrichtung in Richtung des Pfeils 38 wird der Partikel 34 in die gestrichelt dargestellte Lage 40 abgelenkt und von einer Seitenwand 42 des Grabens 20 aufgefangen. Der Partikel 34 gelangt somit aufgrund der durch die elektromagnetische Strahlung hervorgerufenen Beschleunigung in Richtung des Pfeils 38 in den Graben 20 und ist somit aus dem Partikelgemisch 10 aussortiert.

[0036] Um ggf. eine ausreichende Beschleunigung der auszusortierenden Partikel 34 zu gewährleisten, können auf der gegenüberliegenden Seite des Grabens 20 auch mehrere Bestrahlungseinrichtungen 22 hintereinander angeordnet sein, so dass die Partikel mehrere Lichtimpulse o. dgl. durch elektromagnetische Strahlung erhalten.

[0037] Sofern die Partikel 18, 34 in einer Flüssigkeit 60 transportiert werden, muss ggf. der durch die Flüssigkeit auftretende Reibungsverlust berücksichtigt werden. Dieser kann berechnet werden. Ferner ist es möglich, die erforderliche Leistung der einen oder mehreren Bestrahlungseinrichtungen 22 durch Versuche zu bestimmen. Eine Verringerung dieses Reibungsverlustes ist beispielsweise durch Transport der Partikel in einem gasförmigen Medium möglich.

[0038] Da das Aussortieren der Partikel 34 ausschließlich

aufgrund der Absorptions-/Reflexionseigenschaften dieses spezifischen Partikels 34 erfolgt, ist ein vorheriges Analyseren sämtlicher Partikel 18, 34 nicht erforderlich.

[0039] Bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform, die prinzipiell der anhand der Fig. 1 bis 3 beschriebenen Ausführungsform entspricht, ist die Beleuchtungseinrichtung 22 so angeordnet, dass durch die Strahlung 36 die auszusortierenden Partikel 34 vertikal nach oben abgelenkt werden. Bezuglich der nicht auszusortierenden Partikel 18 wird die Schwerkraft ausgenützt, so dass die nicht auszusortierenden Partikel 18 in den Kanal 20 absinken und die auszusortierenden Partikel 34 durch den Impuls, der durch die Strahlung erzeugt wird, über den Graben 20 hinweggehoben werden und somit in den Kanal 12 gelangen. Dieses dem anhand der Fig. 1 bis 3 beschriebenen Verfahren prinzipiell entsprechende Verfahren hat den Vorteil, dass die Schwerkraft nicht überwunden werden muss, um zu vermeiden, dass die Partikel 18 in den Graben 20 gelangen, sondern dass die Schwerkraft zum Sortieren der Partikel genutzt wird.

[0040] Bei der in Fig. 4 dargestellten Ausführungsform sind entsprechende Bestandteile mit denselben Bezugszahlen bezeichnet.

[0041] Ein Partikelstrom 10 wird in Richtung des Pfeils 16 bewegt, wobei zum Ausgleich der Schwerkraft ein geneigter Kanal 46 vorgesehen ist. An einer Austrittskante 48 des Kanals treten die Partikel 18, 34 aus dem Kanal 46 aus und fallen aufgrund der Schwerkraft vertikal nach unten in Richtung eines Pfeils 50.

[0042] Von einer entsprechend der ersten Ausführungsform ausgebildeten Bestrahlungseinrichtung 22 wird eine elektromagnetische Strahlung 36 erzeugt. Diese wirkt auf einen auszusortierenden Partikel 34, durch den die elektromagnetische Strahlung absorbiert und/oder reflektiert wird, derart, dass der Partikel 34 in Richtung eines Pfeils 52 beschleunigt wird und sich somit wie durch die gestrichelten Kreise 54 dargestellt bewegt. Partikel 18, die die elektromagnetische Strahlung 36 nicht oder nur geringfügig reflektieren/absorbieren werden durch den Strahl 36 nicht oder nur geringfügig in Richtung des Pfeils 52 abgelenkt.

[0043] Die abgelenkten auszusortierenden Partikel 34 werden von einer Auffangeinrichtung, bei der es sich ebenfalls um einen Kanal 56 handeln kann, aufgefangen. Der Kanal 56 ist vorzugsweise wiederum geneigt angeordnet, so dass die auszusortierenden Partikel automatisch in Richtung eines Pfeils 58 transportiert werden.

[0044] Das in Fig. 4 dargestellte Partikelgemisch weist senkrecht zur Zeichenebene entsprechend dem anhand der Fig. 1 dargestellten Partikelgemisch 10 eine Breite auf. Der Strahl 36 ist somit wiederum oszillierend oder durch eine entsprechende Linse als Fokuslinie 32 ebenfalls senkrecht zur Zeichenebene ausgerichtet.

[0045] Insbesondere ist die Durchführung des erfundsgemäßen Verfahrens im Zusammenhang mit Chipstrukturen, in denen geeignete Kanäle ausgebildet sind, besonders gut durchführbar.

[0046] Zusätzlich ist es möglich, die Partikel mit Hilfe eines elektrischen Feldes in einer Ebene zu halten, so dass sämtliche Partikel im Wesentlichen beispielsweise in einer gemeinsamen horizontalen Ebene angeordnet sind. Aus dieser Ebene können sodann einzelne Partikel durch das erfundsgemäße Verfahren abgelenkt und der Auffangeinrichtung zugeführt werden. Beispielsweise ist es möglich, einen Partikelstrom in einem Kanal, beispielsweise einem Kippkanal vorzusehen und diesen Kanal nach dem Bestrahlen der Partikel mit elektromagnetischer Strahlung zum Auströten der Partikel in zwei Kanäle aufzuzweigen, wobei die auszusortierenden Partikel aufgrund der durch die elektro-

magnetische Strahlung erfolgenden Ablenkung in den einen Kanal und die nicht aussortierten Partikel in den anderen Kanal gelangen.

[0047] Insbesondere ist es mit dieser Ausführungsform möglich, einen Kanal in mehrere einzelne Kanäle zu unterteilen, so dass die Partikel je nach Größe der erfolgten Ablenkung in einen unterschiedlichen Kanal gelangen. Es ist somit möglich, mit einer einzigen Sortiereinrichtung unterschiedliche Partikel aus einem Partikelstrom auszusortieren.

[0048] Die Durchführung des erfundsgemäßen Verfahrens ist insbesondere in Verbindung mit Mikrostrukturen anwendbar, da in derartigen Strukturen laminare Strömungen besonders einfach realisiert werden können. Die Kanäle derartiger Mikrostrukturen weisen vorzugsweise eine Dimension von 140 bis 180 µm auf, wonit nur laminare Strömungen auftreten können.

[0049] Zusätzlich ist es möglich, das erfundsgemäße Verfahren mit Sortierungsverfahren zu kombinieren, bei denen die Sortierung aufgrund magnetischer, dielektrischer oder elektrischer Kräfte erfolgt.

Patentansprüche

1. Verfahren zum Sortieren von Partikeln, insbesondere Zellen, mit den Schritten:

Bewegen eines auszusortierende Partikel enthaltenden Partikelgemisches (10) relativ zu einer Auffangeinrichtung (20, 56),

Einstellen eines Wellenlängenbereichs einer elektromagnetischen Strahlung in Abhängigkeit der Reflexions- und/oder Absorptionseigenschaften der Partikel (18, 34) derart, dass auszusortierende Partikel (34) eine andere Beschleunigung in Richtung der Auffangeinrichtung (20, 56) erfahren als die nicht auszusortierenden Partikel (18),

Bestrahlen der Partikel (18, 34) mit elektromagnetischer Strahlung (36) zur Beschleunigung der Partikel (34), und

Auffangen der auszusortierenden oder der nicht-auszusortierenden Partikel (34) mittels der Auffangeinrichtung (20, 56).

2. Verfahren nach Anspruch 1, bei welchem die Partikel (18, 34) senkrecht zu ihrer Bewegungsrichtung (16) bestrahlt werden.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, bei welchem die Bestrahlung der Partikel (18, 34) in einer Querebene zur Strömungsrichtung des Partikelgemisches (10) erfolgt, so dass eine Bestrahlungslinie (32), deren Länge vorzugsweise mindestens der Breite eines Partikelstroms (10) entspricht, erzeugt ist.

4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1–3, bei welchem die Partikel (18, 34) von einem oszillierenden Strahl (36) bestrahlt werden.

5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1–4, bei welchem die Partikel (18, 34) gleichzeitig oder in Bewegungsrichtung (16) des Partikelgemisches (10) nacheinander mit Strahlung unterschiedlicher Wellenlängenbereiche bestrahlt werden.

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1–5, bei welchem die auszusortierenden Partikel (34) mit einem Strahlung eines bestimmten Wellenlängenbereichs reflektierenden und/oder absorberenden Marker verbunden sind.

7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1–6, bei welchem die Partikel (18, 34) mit gepulstem Licht, insbesondere gepulstem Laserlicht bestrahlt werden.

8. Vorrichtung zum Sortieren von Partikeln, insbesondere Zellen, mit einer Bestrahlungseinrichtung (22)

zum Bestrahlen eines auszusortierende Partikel (34) enthaltenden Partikelgemisches (10) mit elektromagnetischer Strahlung (36) und einer Auffangeinrichtung (20, 56) zur Aufnahme aussortierter Partikel (34) oder nicht-auszusortierender Partikel, wobei das Partikelgemisch (10) und die Auffangeinrichtung (20, 56) relativ zueinander bewegbar sind, und der Wellenlängenbereich der Bestrahlungseinrichtung (22) derart eingestellt ist, dass die auszusortierenden Partikel (34) eine andere Beschleunigung in Richtung der Auffangeinrichtung (20, 56) erfahren als die nicht auszusortierenden Partikel (18).

9. Vorrichtung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass die Auffangeinrichtung ein Graben (20) ist, über den das Partikelgemisch (10) bewegt wird.

10. Vorrichtung nach Anspruch 8 oder 9, gekennzeichnet durch eine Mikrostruktur mit einem Kanal (12), in dem das Partikelgemisch (10) strömt und einem als Auffangeinrichtung dienenden Kanal (20).

11. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 8-10, dadurch gekennzeichnet, dass die Bestrahlungseinrichtung derart ausgebildet ist, dass eine Linie (32) erzeugt ist, deren Länge vorzugsweise mindestens der Breite des Partikelgemisches (10) entspricht.

12. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 8-11, dadurch gekennzeichnet, dass die Bestrahlungseinrichtung (22) eine Bewegungseinrichtung zur Erzeugung eines oszillierenden Strahls aufweist.

13. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 8-12, dadurch gekennzeichnet, dass die Bestrahlungseinrichtung (22) einen Laser, vorzugsweise ein Einzel-Moden-Laser mit hoher Laserleistung ist.

Hierzu 2 Seite(n) Zeichnungen

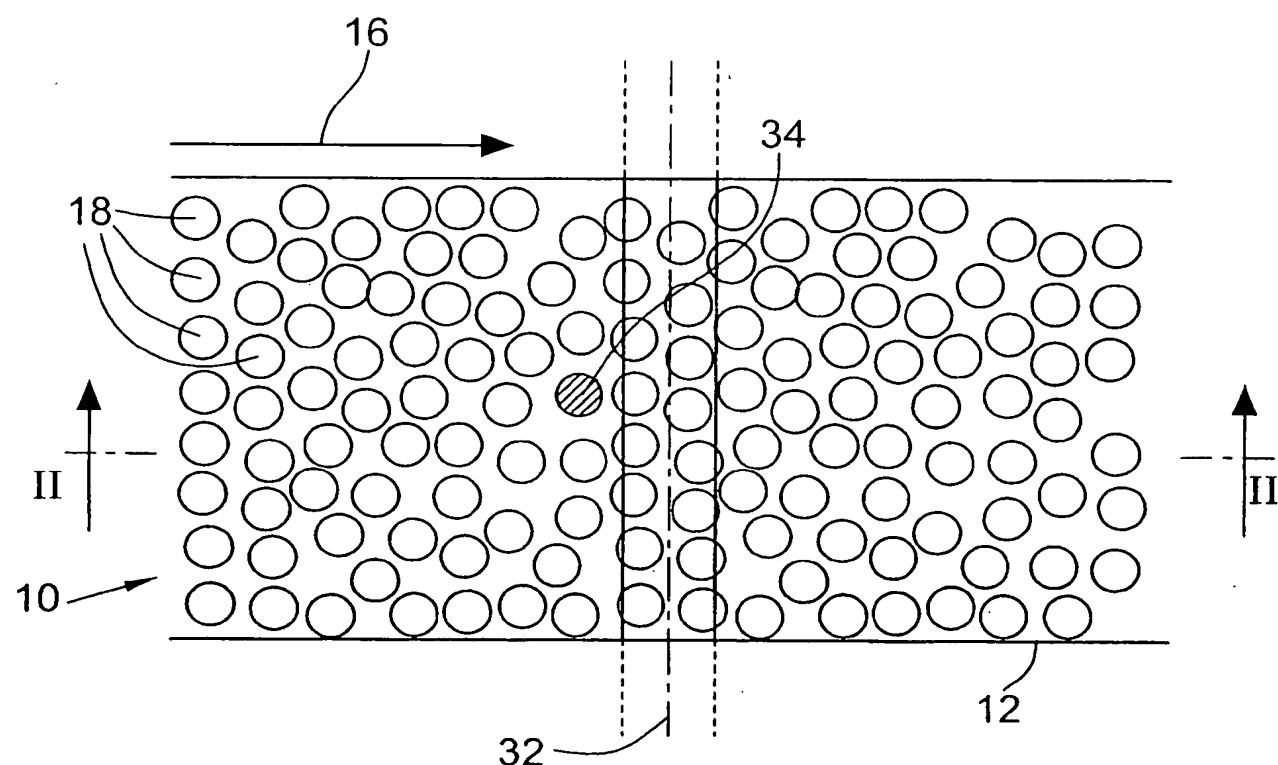


Fig.1

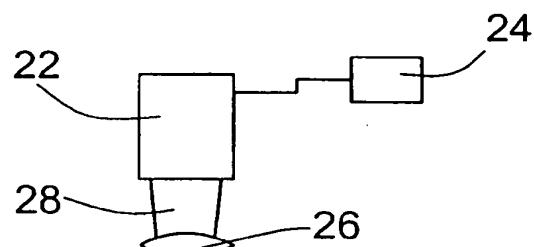


Fig.2

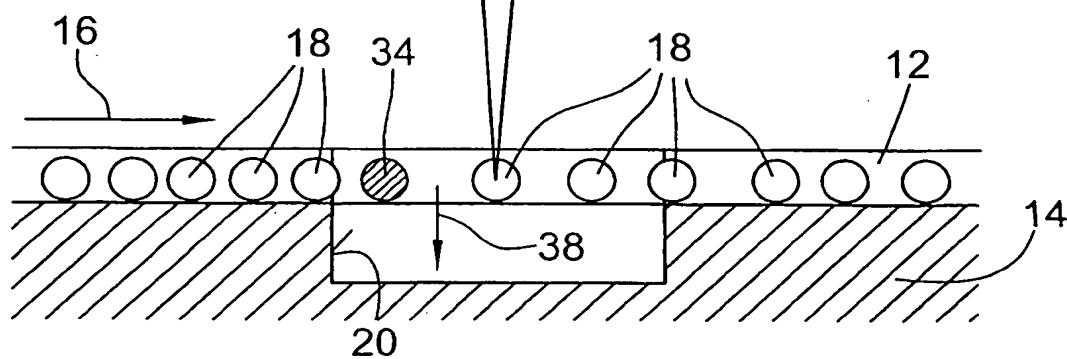


Fig.3

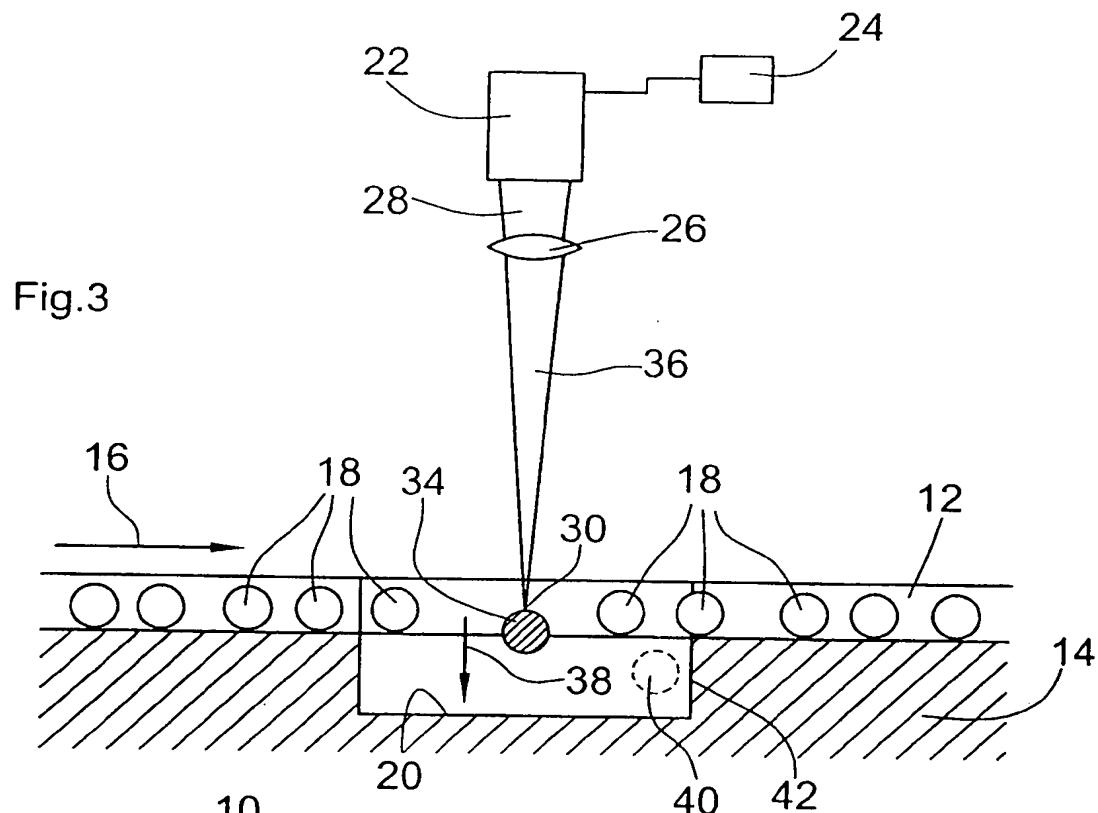


Fig.4